

# 1. Einleitung

## 1.1. Papaverin

Papaverin ist zu ca. 1 % im Opium ( $\acute{\omicron}\pi\acute{\omicron}\varsigma$  = Saft) genannten getrockneten Pflanzensaft des Schlafmohnes (*Papaver somniferum*) enthalten. Chemisch handelt es sich um ein Alkaloid (Benzylisochinolin), welches der Hydrolyse von cAMP und cGMP entgegenwirkt (LUGNIER und STOCKLET), indem es zyklische Nucleotid-Phosphodiesterasen *unspezifisch* hemmt (HARRISON *et al.*). Diese Eigenschaft ist allgemeiner Natur, wie PÖCH und KUKOVETZ an unterschiedlichen Geweben von Säugetieren nachweisen konnten. Eine Aktivitätsänderung von Phosphatasen und 5'-Nucleotidase gehört nicht zum Repertoire von Papaverin (PÖCH und KUKOVETZ).

Es gilt als sehr potentes muskulotropes Spasmolytikum (KUKOVETZ und PÖCH 1970). Dies wird besonders deutlich, wenn sich glatte Muskulatur vorher im kontrahierten Zustand befand. Bei der Papaverin-vermittelten Gefäßrelaxation existiert neben einer Endothel-unabhängigen eine -abhängige Komponente, deren Ausmaß durch spontan freigesetztes Stickstoffmonoxid (=NO bzw. EDRF) bestimmt scheint (MARTIN *et al.*). NO führt im Endothel zu einer Erhöhung von cGMP, welches die Erschlaffung von Gefäßmuskulatur vermittelt. Papaverin verstärkt diese Endothel-abhängige Vasodilatation, indem es die cGMP-Hydrolyse durch PDE-Hemmung verzögert.

Papaverin wird durch  $\beta$ -Adrenozeptorenblocker nicht in seiner Wirkung beeinflusst, agiert somit nicht über Katecholaminfreisetzung (ENDOH und HONMA 1979, KORTH, HOLZMANN *et al.*), wie potentiell bei anderen PDE-Inhibitoren möglich (CODY *et al.*). Es kann jedoch die Akkumulation von cAMP und den positiv inotropen Effekt von Isoproterenol steigern (ENDOH *et al.* 1975). Weder Stärke noch Effizienz der Papaverinwirkung an Gefäßen, welche ein vermindertes Ansprechen auf Isoproterenol nach induzierter Desensibilisierung von  $\beta$ -Adrenozeptoren aufweisen, sind beeinträchtigt (HAYES *et al.*).

Papaverin wirkt chinidinartig (KUKOVETZ *et al.* 1975). Chinidin, ein Antiarrhythmikum der Klasse Ia, beeinflusst im Herzen Vorhof-, Ventrikelmyokard und das His-Purkinje-System. Es verlängert wie Lokalanästhetika durch Natriumkanalblockade (SCHNEIDER) die *relative* Refraktärzeit, verlangsamt die Leitungs- und vermindert die Aufstrichgeschwindigkeit des Aktionspotentials.

Durch atropinähnliche Eigenschaften ( $M_2$ -Rezeptor-Antagonismus), welche bei niedriger Dosierung des Chinidins hervortreten, entsteht eine paradoxe Wirkung. Diese äußert sich in einer im Sinusknoten erzeugten Frequenzzunahme, welche aufgrund einer Verkürzung der Refraktärzeit im AV-Knoten die Kammerfrequenz erhöhen kann.

In höheren Dosen gesellt sich eine Blockade des Kaliumaus(wärts)stromes ( $I_K$ ,  $I_{K1}$ ,  $I_{to}$ ) hinzu, welche der Repolarisation entgegenwirkt und damit über Erhöhung der *absoluten* Refraktärzeit das Aktionspotential besonders am Vorhof verlängert. Da eine Aktivierung von  $K_{ATP}$ -Kanälen neben einer Steigerung des Kaliumaus(wärts)stromes und einer Hyperpolarisation zu einer Gefäßerweiterung führt, ist von Chinidin eine gefäßverengende Wirkung zu erwarten.

Der durch mögliche  $\alpha$ -Adrenozeptorblockade erzeugte Blutdruckabfall kann eine Reflex-tachykardie nach sich ziehen. Negative Inotropie und Induktion von Herzrhythmusstörungen limitieren den Nutzen von Chinidin.

Zu klären bleibt, inwiefern die über Chinidin getroffenen Aussagen auf Papaverin bezüglich Wirkungsmechanismus und Ausprägung übertragbar sind. Die Arbeit von NAWRATH (1980) bestätigt, daß Papaverin den Kaliumausstrom reduziert und das Ruhepotential in Richtung positivere Werte verschiebt. Der Autor bringt die damit einhergehende Verlängerung des Aktionspotentials, über welche bereits in einer früheren Veröffentlichung berichtet wurde (NAWRATH und MEINERTZ), mit einem verbesserten Kalziumeinstrom in Zusammenhang. Demnach könnte die Reduzierung des Kaliumausstromes einen Teil zur positiv inotropen Wirkung des Alkaloids beitragen.

Papaverin zeigt ebenso wie Amrinon und Enoximon die der Phosphodiesterase-Hemmung zugeschriebene, positiv inotrope Wirkung, welche gleichsinnig mit dem cAMP-Spiegel korreliert (ENDO *et al.* 1979). Auch positiv lusitrope Effekte sind dem Papaverin eigen. Sie treten speziesabhängig auch bei Amrinon auf, z.B. beim Hund (ENDO *et al.* 1982 und 1986). Das Wirkprofil der spezifisch die Phosphodiesterase 3 hemmenden Substanzen Amrinon und Enoximon, bestehend aus positiv inotropen Effekten in Kombination mit Vasodilatation, erscheint geradezu ideal zur Behandlung einer Herzinsuffizienz. Jedoch ist der klinische Einsatz zur systemischen Behandlung von Herzerkrankungen durch unerwünschte Nebenwirkungen – fatalerweise besonders kardialer – zur Langzeitbehandlung obsolet.

Papaverin wird in der Koronarchirurgie eingesetzt. Seine topische Anwendung insbesondere zur pharmakologischen Vasodilatation der als Bypassgraft dienenden A. mammaria untersuchten HAUSMANN *et al.*. Eine Arbeit von ROBERTS und Mitarbeiter geht der Frage nach, ob Papaverin in der Lage ist, V. saphenae vor Schäden während der Vorbereitungen als Bypassgraft zu bewahren.

Das Alkaloid verhindert an arteriellen Grafts die Entstehung von Gefäßspasmen, welche durch mechanische Reizung hervorgerufen werden (SCHELD *et al.*). Applikationsformen sind die Injektion in das Gefäß und Tränken des Pedikels in einer Papaverin-haltigen Lösung.

Auf dermatologisch/urologischem Gebiet dient Papaverin der Behandlung sexueller Funktionsstörungen. Neben Phentolamin und Prostaglandin E1 wird es bei Erektionsstörungen vom Patienten selbst in den Schwellkörper injiziert (SCHOPOHL *et al.*). Seine Bedeutung ist nach Einführung des einfacher anzuwendenden, da oral applizierbarem, Viagra® gesunken.

In Forschungsprojekten wird Papaverin unter verschiedenen Aspekten eingesetzt:

- Nutzung der vasodilatorischen Eigenschaften des Papaverins  
beispielsweise um Änderungen der Myokarddurchblutung nach künstlich induzierter Ischämie einzuschätzen (BOLLI *et al.*, EIKENS und WILCKEN) oder zur Herstellung von Ausgangsbedingungen z.B. mittels Erzeugung einer maximalen Gefäßerweiterung, um den Vergleich von Studienergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen zu ermöglichen.
- Beurteilung und Vergleich der vasodilatorischen Potenz des Papaverins  
HENDRICK *et al.* verglichen die Wirkung von Nitroglycerin und Papaverin auf den koronaren Bypassgraft. Im Gehirn von Ratten steigert Papaverin den Blutfluß über Widerstandsänderungen der Arteriolen, ohne das von präkapillären Sphinktern regulierte Blutvolumen der kleinen Gefäße zu beeinflussen (CONWAY und WEISS).
- zur Beurteilung von Wirkmechanismen anderer Substanzen  
HASLAM und LYNHAM setzten das Alkaloid ein, um zu klären, ob Adenosin in Thrombozyten seine cAMP-steigernde Wirkung auch z.T. über PDE-Hemmung entfaltet.
- zur Untersuchung der Papaverinwirkung selbst  
ASHRAF *et al.* wiesen intraoperativ an menschlichen Herzen einen myokardprotektiven Effekt von Papaverin nach, welcher vermutlich auf einer gleichmäßigen Verteilung der kardioplegischen Lösung beruht.
- als diagnostisches Hilfsmittel  
wird Papaverin zur Hyperämieinduktion verwendet, um z.B. eine Einschränkung der myokardialen Flußreserve zu erfassen (KLAUSS *et al.*).  
Die Indikation zur intrakoronaren Papaverininjektion ist dennoch sorgfältig zu prüfen, da diese mit den Risiken einer QT-Verlängerung und ventrikulären Arrhythmien behaftet ist (INOUE *et al.*).

In dieser Arbeit wird die Wirkung von Papaverin auf isolierte Herzen von Meerschweinchen und Ratten untersucht und mit weiteren, Phosphodiesterase-hemmenden Substanzen verglichen. Ziel ist es, noch einmal eine Charakterisierung des Alkaloids zu erstellen unter Bezugnahme auf bestehende, teilweise voneinander abweichende Erkenntnisse über Papaverin. Es soll versucht werden, Diskrepanzen in der relativen Wirkung auf Herz und

Gefäße zu erklären. Weiterhin werden Versuchsbedingungen durch Änderung der Kalziumkonzentration im Perfusionsmedium geschaffen, welche geeignet erscheinen, die Eigenschaften des Alkaloids unter den vorgegebenen Bedingungen näher zu beleuchten. Dabei erhaltene, teilweise bislang nicht beschriebene Ergebnisse werden interpretiert auf der Basis des wissenschaftlichen Kenntnisstandes zur Zeit der Fertigstellung der Arbeit.

## 1.2. Theoretischer Hintergrund

Im Folgenden sind einige Grundlagen aufgeführt. Sie sollen als Einstieg in die Thematik und dem besseren Verständnis der in der Diskussion getroffenen Aussagen und Schlußfolgerungen dienen. Die nachfolgenden Ausführungen basieren auf Erkenntnissen aus den Bereichen Biochemie, Physiologie und Pharmakologie. Sie sind zusammengestellt und erarbeitet aus einschlägigen Lehrbüchern, Veröffentlichungen sowie Übersichtsarbeiten, welche im Literaturverzeichnis aufgelistet sind.

### 1.2.1. Rolle des Kalzium

Die Zelle ist bestrebt, den Kalziumkonzentrationsgradienten zwischen Intra- ( $10^{-7}$  mol/l) und Extrazellulärraum ( $10^{-3}$  mol/l) konstant zu halten. Damit ist für dieses Ion die Voraussetzung geschaffen, über Signal-induzierte Konzentrationsänderungen als Botenstoff zu fungieren.

Positive Inotropie beruht auf einer Erhöhung der myoplasmatischen Kalziumkonzentration. Nach SCHOLZ tragen folgende Mechanismen dazu bei: Anstieg des cAMP-Gehaltes, Aktivierung von Kalziumkanälen, Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration, Hemmung des  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austausches und Hemmung von Kaliumkanälen.

Primär aktiver Transport mittels ATP-getriebenen Pumpen (je Pumpe 30  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen pro Sekunde) in der Membran der Zelle und des sarkoplasmatischen Retikulums und sekundär aktiver  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Antiport (je Austauscher 2000  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen pro Sekunde) unter indirekter Ausnutzung des durch die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Pumpe erzeugten elektrochemischen Natriumgradienten senken die Kalziumkonzentration (Kapitel II. 12. in STRYER).

Isoformen von Kalziumpumpen können Calmodulin binden und durch Proteinkinasen A und C phosphoryliert werden (Kapitel 24.2 in LÖFFLER/PETRIDES).

Der Membranpotential-abhängige Gleichgewichtszustand des eben beschriebenen  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Antiports bedingt gegensätzliche Funktion. Wird durch Depolarisation das Membranpotential größer als -40 mV, funktioniert der  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Antiporter in umgekehrter Richtung, d.h. Kalzium gelangt in die Zelle hinein und Natrium hinaus (Kapitel 23 in SCHMIDT/THEWS und SCHOLZ).

Der Aufbau des Herzmuskels als funktionelles Synzytium ermöglicht die nahezu zeitgleiche Öffnung spannungsabhängiger L-Typ-Kalziumkanäle in der Plasmamembran, wodurch der zytosolische Kalziumgehalt erhöht wird. Phosphorylierung derartiger Kanäle durch die cAMP-abhängige Proteinkinase A erhöht die Öffnungswahrscheinlichkeit (Kapitel 24.2.7 in LÖFFLER/PETRIDES und KAMEYAMA *et al.*).

Kalzium kann einerseits durch  $IP_3$ , andererseits durch die eigene Triggerwirkung über Kalziumkanäle (Ryanodin-Rezeptoren) aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt werden. Seine Bindung an Proteine, zu denen Calmodulin, Troponin C und Proteinkinase C gehören, bewirkt eine (Teil-)Aktivierung dieser und initiiert dadurch den nachgeschalteten Ablauf verschiedener Reaktionskaskaden. Die  $Ca^{2+}$ /Calmodulin-abhängige Myosin-Leichtketten-Kinase setzt die Kontraktion glatter, Beladung von Troponin C dagegen die Kontraktion quergestreifter Muskelzellen in Gang.

Indem  $Ca^{2+}$ /Calmodulin die Kalziumpumpe in der Plasmamembran aktiviert, reguliert Kalzium seine eigene intrazelluläre Konzentration. Auch verändert  $Ca^{2+}$ /Calmodulin den Aktivitätszustand der Adenyl(at)zyclase und der cAMP-Phosphodiesterase.

Eine direkte Wirkung von Kalzium ist die Erhöhung der Kaliumleitfähigkeit mittels Öffnen der Kaliumkanäle (Kapitel 2.5 in KLINKE/SILBERNAGEL).

Intrazellulär ansteigendes Kalzium reguliert mittels mehrerer negativer feedback-Schleifen seinen eigenen Einstrom in das Myokard:

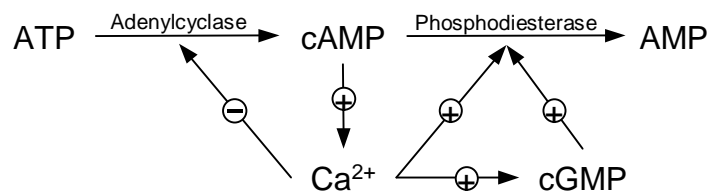


Abb. 1.2 mögliche Mechanismen zur Regulation des intrazellulären Kalziumspiegels (nach TADA *et al.* und DUMONT *et al.*)

Aufgrund eines im Gegensatz zum Skelettmuskel geringer ausgeprägten Systems für intrazelluläre Kalziumspeicherung ist der Herzmuskel stärker auf extrazelluläres Kalzium angewiesen. Daher ist die Herzmuskelfunktion über experimentelle Veränderungen der extrazellulären Kalziumkonzentration und damit des Kalziumgradienten über der Plasmamembran beeinflussbar. Letzterer entscheidet über die Höhe des Kalziumeinstromes bei sonst unveränderten Bedingungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es u.a., die Papaverinwirkung unter dem Einfluß von Kalzium durch Modifikation der extrazellulären Kalziumkonzentration näher zu beschreiben.

### 1.2.2. Muskelkontraktion und Erschlaffung in glatten Muskelzellen und Gefäßen

Kalzium ist zum Kontrahieren glatter Muskulatur genauso unverzichtbar wie in quer-gestreifter. Jedoch unterscheidet sich der Angriffspunkt. Kalzium vermittelt an Calmodulin gebunden die Deblockade des Caldesmon am Actinfilament.

Myosinphosphorylierung durch die Myosin-Leichtketten-Kinase (MLC) setzt den Verkürzungsvorgang mittels Ineinanderschieben von Myosin und Actin in Gang.

Um die Myosin-Leichtketten-Kinase zur Phosphorylierung zu befähigen, muß sie eine Bindung mit Calmodulin eingehen. Voraussetzung dafür ist eine Beladung des Calmodulins - welches im übrigen dem Troponin C zu etwa 75 % homolog ist (Kapitel 24.2.7 in LÖFFLER/PETRIDES) - mit Kalzium.

Die Erschlaffung kommt zustande durch Proteinkinase-A (PKA)-vermittelte Phosphorylierung der Myosin-Leichtketten-Kinase, die dadurch unempfindlich gegenüber dem Kalzium-Calmodulin-Komplex wird. Dieser Mechanismus geht demnach ohne Erniedrigung des zytoplasmatischen Kalziums einher.

Eine cGMP-vermittelte Senkung des Kalziumspiegels in der Zelle erzeugt Vasodilatation.

### 1.2.3. Zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und Phosphorylierung

Zyklisches Adenosinmonophosphat gilt ebenso wie Kalzium als intrazellulärer Botenstoff. Diesem nachgeschaltet sind diverse Zellfunktionen. Seine Synthese erfolgt durch die Adenyl(at)cyclase, welche eine unterschiedliche Gewebsverteilung aufweist. Deren Isoformen I (neuronales Gewebe), III und besonders II können mittels Phosphorylierung durch die DAG-stimulierte Proteinkinase C aktiviert werden. Im Herzmuskel herrschen die Isoformen IV, V und VI vor (Kapitel 27.6 in LÖFFLER/PETRIDES). Die einzige bisher bekannte Funktion des cAMP besteht ab einer Konzentration von 10 nM (Kapitel 10 in STRYER) in der Phosphorylierung und damit Aktivierung von Proteinkinasen, bevorzugt der Proteinkinase A. Letztere hat ebenfalls die Phosphorylierung von Proteinen zur Aufgabe. Die Proteinkinase A zeigt Affinität zu verschiedenen Substraten. An dieser Stelle wird deutlich, daß viele Effekte auf einen einzigen Botenstoff - nämlich cAMP - zurückgehen.

Proteinphosphorylierung und -dephosphorylierung sind wichtige Mechanismen zur Regulierung von Zellfunktionen. Körpereigene und zu therapeutischen Zwecken eingesetzte Substanzen beeinflussen mittels Regulatorproteinen den Phosphorylierungszustand vieler intrazellulärer Proteine und greifen darüber in Prozesse auf Zellebene ein. Durch Phosphorylierung werden biologische Eigenschaften hervorgerufen, aufgrund derer sich z.B. Änderungen von Ionenflüssen, Durchlässigkeit von Membranen, Myokardkontraktilität und -metabolismus ergeben können. Phosphorylierung sarkolemmgebundener Kalziumkanäle

wirkt sich auf die Kanalfunktion und damit auf den kontraktile Zustand des Herzens aus. Ein viel untersuchtes Thema stellt die zeitliche und ursächliche Verknüpfung von cAMP und positiv inotroper Wirkung dar (KUKOVETZ und PÖCH 1972, ENDOH *et al.* 1986, HOLZMANN *et al.*). Mittels Dibutyryl-cAMP bestätigten MEINERTZ *et al.* 1973 diesen kausalen Zusammenhang an Herzkammern und -vorhöfen verschiedener Säugetiere einschließlich Ratten und Meerschweinchen. Zusätzlich beobachteten sie eine Verkürzung der Relaxationszeit. Nach heutigen Erkenntnissen ist cAMP an folgenden Prozessen (s. Abb. 1.1) beteiligt:

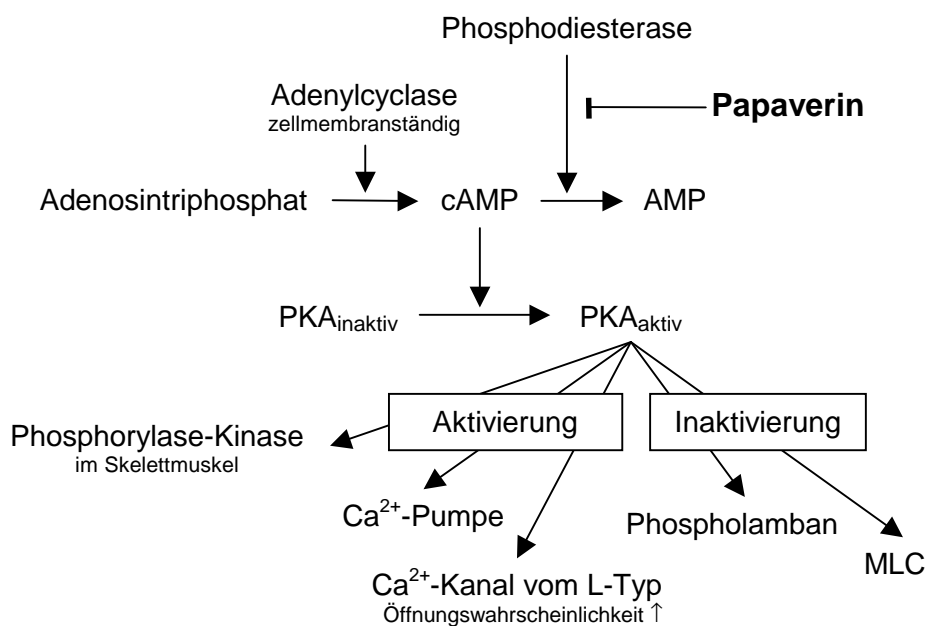


Abb. 1.1 Regulation von Zellfunktionen mittels cAMP-vermittelter Phosphorylierung

*Phosphorylierung* von sarkolemalem Kalziumkanälen und intrazellulären Kalziumspeichern (Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulums) erhöhen den Kalziumeinstrom – sichtbar an einer Erhöhung der Plateauphase des Aktionspotentials – bzw. die intrazelluläre Kalziumfreisetzung. Dadurch steht für die nächste Kontraktion mehr Kalzium zur Verfügung. Die maximale Kontraktionsgeschwindigkeit nimmt zu = positive Inotropie. Das erhöhte Kalziumangebot ermöglicht eine vermehrte Speicherung von z.T. auch transmembranär eingeströmten Kalzium im sarkoplasmatischen Retikulum.

An glatter Gefäßmuskulatur nimmt man eine *Aktivierung von Kaliumkanälen* an. Die sich daraus ergebende Hyperpolarisation wirkt sich hemmend auf spannungsabhängige Kalziumkanäle aus.

Durch die *Phosphorylierung* von Phospholamban am sarkoplasmatischen Retikulum wird die Hemmung einer Kalziumpumpe aufgehoben. Dies führt zu einer beschleunigten und verstärkten Sequestrierung von Kalzium im Anschluß an die Muskelkontraktion. Dieser Effekt zeigt sich zunächst anhand einer verbesserten diastolischen Relaxation (= positiv lusitroper Effekt), in den folgenden Zyklen auch der maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit.

Die Phosphodiester cAMP und cGMP werden durch Phosphodiesterasen abgebaut. Indem diese Enzyme gehemmt werden, z.B. mit Papaverin, kann der cAMP- und cGMP-Spiegel angehoben und somit die nachgeschalteten Effekte gesteigert werden.

Alleiniger Anstieg von intrazellulärem cAMP wirkt positiv inotrop. Gleichzeitiger Anstieg von cAMP und cGMP reduziert den positiv inotropen Effekt von cAMP allein. Dagegen wirken cAMP und cGMP synergistisch gefäßerweiternd (SILVER).

Möglicherweise phosphoryliert cGMP über die cGMP-abhängige Proteinkinase ATP-getriebene Kalziumpumpen in glatten Muskelzellen.

Der cAMP-Spiegel wird von Kalzium beeinflusst (vergl. Abb. 1.2): Zum einen reduziert Kalzium ( $10^{-7}$ - $10^{-3}$  M) die basale und die durch Epinephrin und NaF stimulierte Adenylatzyklaseaktivität (TADA *et al.*). Dieser Effekt tritt bereits während regelrecht ablaufender Herzaktionen ein. Dort führt eine im Vergleich zur Systole ( $10^{-7}$  M  $\text{Ca}^{2+}$ )  $100 \times$  höhere Kalziumkonzentration in der Diastole ( $10^{-5}$  M  $\text{Ca}^{2+}$ ) zu einer Halbierung des cAMP-Spiegels (TADA *et al.*). Zum anderen reguliert Kalzium ( $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M  $\text{Ca}^{2+}$ ) den cAMP-Spiegel mittels Aktivierung hauptsächlich der Kalzium-Calmodulin-stimulierten PDE. Unter der Annahme, daß Kalzium die Guanylatcyclase zur Produktion von GMP anregt, könnte auch cGMP-stimulierte PDE beteiligt sein, jedoch in weitaus geringerem Umfang (DUMONT *et al.*).

### 1.3. Phosphodiesterase (PDE) -Typen und -Inhibitoren

Nach BEAVO und REIFSNYDER (1990) lassen sich mehr als 20 Isoenzyme der Phosphodiesterase fünf verschiedenen, aber verwandten Genfamilien zuordnen. Inzwischen sind derer mindestens 11 bekannt. Isoenzyme weisen unterschiedliche Gewebeverteilung und intrazelluläre Lokalisation auf (NICHOLSON *et al.*). Sie lassen sich durch Substrataffinität zu cAMP und/oder cGMP, maximale Aktivität, chromatographisches und kinetisches Verhalten, Molekularstruktur, Empfindlichkeit gegenüber selektiven Inhibitoren, unterschiedliche Expression in verschiedenen Zellarten sowie intrazelluläre Regulation und Lokalisation voneinander abgrenzen (SILVER). Diese Eigenschaften variieren nochmals innerhalb verschiedener Gewebetypen (KOMAS *et al.*).



Bisher sind keine Inhibitoren bekannt, welche zwischen PDEs ein und derselben Familie unterscheiden können. Die meisten Inhibitoren erreichen eine mindestens 20-fache Selektivität für ihre PDE-Familie. Ähnlichkeiten im Bereich der katalytischen Domäne verschiedener PDE-Familien sind eine Erklärung für die unspezifische Hemmung vieler Phosphodiesterase-Inhibitoren. Reguliert werden PDEs durch feedback-Kontrolle mittels Proteinkinasen, Kalzium und cGMP (BEAVO und REIFSNYDER).

Isoenzyme der zyklischen 3',5'-Nukleotidphosphodiesterase sind wichtige Komponenten in der cAMP-PKA-Kaskade. Sie sind das Ziel selektiver PDE-Hemmer, welche eine Schlüsselstellung in der Entwicklung neuer, in Signalübertragungswege eingreifender Pharmaka innehaben.

### *PDE-Familien*

- *PDE1, Kalziumcalmodulin-abhängig*

Vorkommen: Herz (Purkinje-Zellen), glatte Muskulatur, Gehirn (Rind), Lunge

Inhibitoren: 8-methoxymethyl-3-isobutyl-1-methylxanthin ( $IC_{50}$  4  $\mu$ M),

Phenothiazine ( $IC_{50}$  1  $\mu$ M)

$K_m$ : 0,2-0,5  $\mu$ M für cGMP, cAMP wird mit etwas geringerer Affinität hydrolysiert.

Anmerkung: Relaxation glatter Muskulatur wird auf cGMP-Erhöhung zurückgeführt.

- *PDE2, cGMP-stimuliert*

Vorkommen: Herz (Rind), Nebenniere, Leber

Inhibitoren: keine bekannt, aber die meisten PDE-Hemmer aktivieren diese Form in geringen Konzentrationen, was nach SILVER zu einer verminderten Kalziumleitfähigkeit im Herzen führen könnte.

$K_m$ : mit 10-50  $\mu$ M hoch für cAMP und cGMP, max. Geschwindigkeit  $\sim 10 \times$  höher als bei den übrigen Typen. cGMP stimuliert cAMP-Hydrolyse.

Anmerkung: Man nimmt an, daß die physiologische Bedeutung aufgrund der hohen  $K_m$ , welche hohe Nukleotidkonzentrationen bedingt, nicht groß ist. (in SILVER)

- *PDE3, cGMP-inhibiert*

Vorkommen: Herz, glatte Muskulatur, Thrombozyten, Adipozyten, Leber

Inhibitoren: Milrinon = WIN47203 ( $IC_{50}$  0,3  $\mu$ M), Enoximon ( $IC_{50}$  1  $\mu$ M), Amrinon

$K_m$ : 0,2-0,3  $\mu$ M für cAMP, cGMP von Typ 3 kaum abgebaut,  $K_i$  für cGMP-Hemmung der cAMP-Hydrolyse 0,06  $\mu$ M (HARRISON *et al.*)

Anmerkung: Dieser Typ gehört zur Gruppe der „low  $K_m$ “ PDE (PÉREZ *et al.*) und wird durch cAMP-vermittelte Phosphorylierung stimuliert  $\rightarrow$  feedback. Die subzelluläre Verteilung ist abhängig von der Spezies. Im menschlichen Myokard kommt dieses

Isoenzym sowohl in löslicher als auch in gebundener Form, im Meerschweinchenmyokard dagegen nur in löslicher Form vor. Hemmung erzeugt positive Inotropie, Lusitropie, Reduktion der Nachlast und Vasodilatation über das cAMP-System.

- *PDE4, cAMP-spezifisch*

Vorkommen: weitverbreitet u.a. in ZNS, Reproduktionsorganen, Niere, Lymphozyten

Inhibitor: Rolipram = ZK62711 ( $IC_{50}$  1  $\mu$ M)

$K_m$ : niedrig für cAMP

Anmerkung: Dieser Typ gehört ebenfalls zur Gruppe der „low  $K_m$ “ PDE (PÉREZ *et al.*). Eine lösliche und gebundene Form ist in Ratten- und Meerschweinchenmyokard bekannt. Sie scheint nicht bzw. lediglich additiv bei der direkten Regulation positiver Inotropie mitzuwirken.

- *PDE5, cGMP-spezifisch*

Vorkommen: glatte Gefäßmuskulatur, Gefäßbett der Corpora cavernosa, Lunge, Thrombozyten, Photorezeptoren der Retina (Rind)

Inhibitoren: Dipyridamol ( $IC_{50}$  0,9  $\mu$ M), Zaprinast = M&B229948 ( $IC_{50}$  0,8  $\mu$ M), Sildenafil (Viagra<sup>®</sup>) ( $IC_{50}$  3,5-3,9 nM) relativ selektiv (Anstieg von cAMP → venöses Pooling)

$K_m$ : niedrig/hoch für cAMP

Anmerkung: Inhibitoren wirken schwach positiv inotrop und vasodilatierend, letzteres indem sie die gefäßrelaxierenden Effekte von Stickstoffoxid potenzieren.

- *PDE6, cGMP-hydrolysierend*

Vorkommen: Retina (Stäbchen-Photorezeptoren)

Inhibitor: E4021 (zusätzlich PDE5-Hemmung)

Anmerkung: nahe verwandt mit PDE5, daher Inhibition durch Viagra<sup>®</sup> (10 × weniger selektiv als bei PDE5), was eine Erhöhung der Lichtempfindlichkeit und Wahrnehmung eines Blauschleiers hervorrufen kann. Die lichtabhängige Aktivierung der PDE6 durch das G-Protein Transduzin der Retina führt zu einem Abfall der intrazellulären cGMP-Konzentration und dem Schließen der cGMP-gekoppelten Kanäle in der Zytoplasmamembran der Photorezeptoren.

- *PDE7B, cAMP-spezifisch*

Vorkommen: Gehirn, Herz, Pankreas, Skelettmuskel, Schilddrüse, Auge, Ovarien, Nebenhoden, Leber, submaxilläre Drüsen

Inhibitoren: am stärksten gehemmt durch IBMX ( $IC_{50}$  2,1  $\mu$ M), auch durch Papaverin, Dipyridamol und in höherer Dosierung durch SCH51866.

$K_m$ : 0,03  $\mu\text{M}$  für cAMP

Anmerkung: Isoenzym Typ 7A2,  $K_m$  0,1  $\mu\text{M}$  für cAMP, Vorkommen in menschlichem Skelettmuskel und Herz.

- *PDE8A, cAMP-spezifisch*

Vorkommen: Hoden, Ovarien, Dünndarm und Kolon

Inhibitor: Dipyridamol ( $\text{IC}_{50}$  9  $\mu\text{M}$ )

$K_m$ : 55 nM für cAMP und 124  $\mu\text{M}$  für cGMP,  $V_{\text{max}}$  150 pmol/min/ $\mu\text{g}$

Anmerkung: zur maximal hydrolytischen Aktivität  $\geq 1$  mM  $\text{Mn}^{2+}$  oder  $\text{Mg}^{2+}$  notwendig, während mit 100 mM  $\text{Ca}^{2+}$  nur ca. 20 % Aktivität erreicht werden; 38,5 % der Aminosäuren in der katalytischen Domäne mit PDE4 identisch; Typ 8B in der Schilddrüse vorhanden.

- *PDE9, cGMP-hydrolysierend*

Vorkommen: Milz, Dünndarm, Gehirn, Niere

Inhibitoren: Zaprinast ( $\text{IC}_{50}$  35  $\mu\text{M}$ ), SCH518866

$K_m$ : 170 nM,  $V_{\text{max}}$  4,9 nmol/min/mg Protein

(FISHER *et al.*, SONDERLING *et al.*)

- *PDE10A*

Vorkommen: Hoden und Gehirn

Inhibitoren: u.a. IBMX

$K_m$ : 0,05  $\mu\text{M}$  für cAMP, 3  $\mu\text{M}$  für cGMP,  $V_{\text{max}}$ -Verhältnis cGMP/cAMP 4,7

- *PDE11A*

Vorkommen: Skelettmuskel, Prostata, Niere, Leber, Speicheldrüsen, Hoden, Hypophyse

Inhibitoren: IBMX ( $\text{IC}_{50}$  49,8  $\mu\text{M}$ ), Zaprinast ( $\text{IC}_{50}$  12  $\mu\text{M}$ ), Dipyridamol ( $\text{IC}_{50}$  0,37  $\mu\text{M}$ )

$K_m$ : 0,52  $\mu\text{M}$  für cAMP, 1,04  $\mu\text{M}$  für cGMP, ähnliche  $V_{\text{max}}$ -Werte für cGMP und cAMP (Fawcett *et al.*)

### *Papaverin und Theophyllin*

gelten als relativ kompetitive unspezifische PDE-Hemmer bzgl. cAMP und cGMP.  $\text{IC}_{50}$  in  $\mu\text{M}$  für  $\leq 1$   $\mu\text{M}$  Substrat (abhängig vom Isoenzym) bei nichtselektiven Inhibitoren beträgt für Papaverin ~5-25, für Theophyllin ~200 und für 3-Isobutyl-1-methylxanthin ~5-25.

Der geringe therapeutische Nutzen ist z.T. auf deren *unspezifische* Hemmung auch in anderen als den Zielzellen zurückzuführen. Weiterhin wird er mitbedingt durch zusätzliche Wirkmechanismen.

Für *Theophyllin* sind bekannt:

- ① Hemmung (SCHRADER *et al.*, BEAVO und REIFSNYDER) von Adenosin<sub>2</sub>-Rezeptoren (Agonisten stimulieren die Adenylatcyclase in glatter Gefäßmuskulatur) → Vasokonstriktion als gegensinniger Effekt zur ansonsten koronardilatierenden Theophyllinwirkung
- ② Phosphodiesterase-Hemmung → positiv inotrop und chronotrop, Nebenwirkung vorrangig kardiovaskulär
- ③ von der PDE-Hemmung unabhängige Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern, Hemmung der Kalziumwiederaufnahme in das SR

Um jeweils 50 % der Theophyllinwirkung zu erzielen, sind für ① 15 µM, für ② 400 µM und für ③ 3000 µM notwendig (FORTH *et al.*). Das entspricht dem 27- bzw. 200fachen der für ① benötigten Dosis.

#### *Amrinon und Enoximon*

sind *spezifische* Hemmstoffe der Phosphodiesterase 3 und wirken positiv inotrop, chronotrop, lusitrop und dromotrop. Die Bezeichnung Inodilatoren beruht auf ihrem Wirkprofil: Gefäßerweiterung, Zunahme von Schlag- und Herzzeitvolumen, Abnahme des peripheren Widerstandes und des LVEDP. Die Wirkung von Amrinon auf die cGMP-inhibierte PDE3 ist effektiver als cGMP selbst (BEAVO und REIFSNYDER).

Aufgrund der Dominanz ernster, besonders proarrhythmischer Nebenwirkungen haben sich PDE-Inhibitoren trotz guter Steuerbarkeit nur als eingeschränkt nutzbar erwiesen. Sie können kurzfristig angewendet werden bei akuten Interventionen und Patienten mit schwerster Herzinsuffizienz (STEFANELLI).

Medikamentös können Katecholamine mit den Phosphodiesterase-3-Hemmern Amrinon (Bolus von 0,5-1,0 mg/kg) oder Enoximon (Bolus von 0,5 mg/kg) kombiniert werden. Über einen begrenzten Zeitraum konnte Enoximon das NYHA-Stadium III und IV um eine Stufe verbessern (Kapitel 4.3 in UNGER *et al.*).

PDE-Inhibitoren kommen erst dann zum Einsatz, wenn ein hoher zentraler Venendruck bzw. rechtsatrialer Druck, ein erniedrigtes Herzzeitvolumen und ein hoher Füllungsdruck im linken Ventrikel vorliegen. Bei systolischen Blutdruckwerten unter 90 mmHg sollten PDE-Inhibitoren nicht mehr verabreicht werden (SABOROWSKI).

Phosphodiesterasehemmstoffe überbrücken die Nichtansprechbarkeit auf Katecholamine im Falle einer Tachyphylaxieentwicklung bzw. bei akuter Verschlechterung einer chronischen Herzinsuffizienz, welche mit verminderter  $\beta$ -Rezeptorendichte (SABOROWSKI *et al.*) einhergehen. Allerdings unterliegen auch PDE-Hemmer einer Wirkungsabschwächung aufgrund einer Zunahme inhibitorischer G-Proteine (SCHOLZ *et al.*).